

382

PURIFICAÇÃO DE UMA CISTEÍNO ENDOPEPTIDASE DE OVOS DO CARRAPATO *BOOPHILUS MICROPLUS* ASSOCIADA À VITELINA. Adriana Seixas¹; Fabiana Horn²; Carlos Termignoni^{1,3} (1-Centro de Biotecnologia do Estado do Rio Grande do Sul; 2-Departamento de Biofísica; 3-Departamento de Bioquímica – UFRGS).

O carrapato *Boophilus microplus* é um importante ectoparasita de bovinos com ocorrência em diversas regiões do mundo. Em trabalhos anteriores relatamos a presença de uma cisteíno endopeptidase em ovos de *Boophilus microplus*. Aqui, mostramos um novo protocolo de purificação que permite obter uma preparação homogênea desta enzima. 1) Extrato de ovos é fracionado em uma cromatografia de troca iônica (MonoQ); 2) As frações contendo atividade são acidificadas (pH 3,5) e submetidas a uma reação de autólise (37°C/2 h); 3) A amostra é centrifugada, concentrada e processada em uma coluna de gel filtração (Superdex 75); 4) As frações contendo atividade são novamente fracionadas em coluna MonoQ. A pureza da enzima foi confirmada por eletroforese capilar. Esta atividade enzimática foi totalmente inibida por E-64, confirmando tratar-se de uma cisteíno endopeptidase. Esta cisteíno endopeptidase está associada à vitelina, principal proteína de reserva de ovos de artrópodos. Esta ligação é tão forte que somente pode ser rompida por autólise (etapa 2). Durante este processo de autólise há degradação da vitelina e de outras proteínas de alta massa molecular, e permanência da atividade peptidásica. Este resultado sugere que esta cisteíno endopeptidase esteja envolvida na degradação de vitelo durante a embriogênese do carrapato. Apoio: CNPq-PIBIC, PRONEX, Fapergs.